

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

## ORGANISM MINOR COMPONENT EXAMINATION DEVICE

Patent Number: JP5312811  
Publication date: 1993-11-26  
Inventor(s): TANAKA KAZUSANE; others: 04  
Applicant(s): CANON INC  
Requested Patent: ☐ JP5312811  
Application Number: JP19920139838 19920501  
Priority Number(s):  
IPC Classification: G01N33/543; G01N21/01; G01N35/08  
EC Classification:  
Equivalents: JP3076144B2

### Abstract

**PURPOSE:** To provide a organism minor-component examination device, having a small-sized and simple structure, and generating little examination waste liquid.

**CONSTITUTION:** A reaction vessel 30, a flow cell 31, and a waste liquid vessel 32 under a reduced pressure state are united mutually, and the flow cell 31 is formed of optically transparent material. Absorption members 33 are included in the connection portion of the flow cell 31 and the waste liquid vessel 32, and in the waste vessel 32. A reagent, a specimen, and the like are injected in the reaction vessel 30 through an inlet 34, and are stirred by means of a stirrer 35 so as to accelerate a complex formation reaction. After the progress of the reaction in reaction liquid, the reaction liquid is diluted by dilution liquid. Then, the reaction liquid flows out of the reaction vessel 30 via the flow cell 31 owing to the capillary phenomenon of the waste liquid vessel 32, and measurement is performed at the flow cell 31 using laser radiation L.

Data supplied from the esp@cenet database - 12

In an example of the device, (30) is the reaction tank, (31) is capillary flow cell, (32) is waste liq. tank, (33) is absorbing material such as cotton or filter paper, (36) is laser light source, (40) is 1st optical detector and (42) is 2nd optical detector. According to the simple device, the amt. of waste liq. can be greatly reduced.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-312811

(43) 公開日 平成5年(1993)11月26日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/543	S	9217-2 J		
21/01	Z	7370-2 J		
35/08	D	8310-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平4-139838

(22) 出願日 平成4年(1992)5月1日

(71) 出願人 000001007

キヤノン株式会社

東京都大田区下丸子3丁目30番2号

(72) 発明者 田中 和貴

東京都大田区下丸子三丁目30番2号 キヤ  
ノン株式会社内

(72) 発明者 高山 秀人

東京都大田区下丸子三丁目30番2号 キヤ  
ノン株式会社内

(72) 発明者 大西 敏一

東京都大田区下丸子三丁目30番2号 キヤ  
ノン株式会社内

(74) 代理人 弁理士 日比谷 征彦

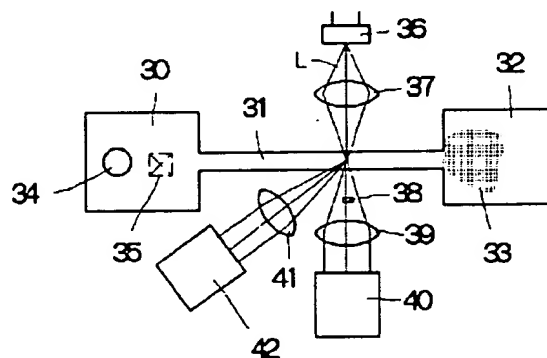
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体微量成分検査装置

(57) 【要約】

【目的】 小型で簡便な構造で、検査廃液の少ない生成微量成分検査装置を提供する。

【構成】 反応槽30、フローセル31、減圧状態にある廃液槽32が一体化され、フローセル31は光学的に透明な材料で形成されている。フローセル31と廃液槽32の連結部及び廃液槽32内には吸収部材33が内蔵されている。反応槽30に注入口34から試薬、検体などを注入し攪拌具35により攪拌し複合体生成反応を促進する。反応が進行した反応液を希釈液により適宜に希釈すると、反応液は反応槽30からフローセル31を経て廃液槽32の毛細管現象により流れ出し、フローセル31においてレーザー光Lを用いて測定を行う。



1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 固体微粒子の表面に、検体中の生体微量成分に対し活性な第1の物質を結合させた第1の試薬と、前記検体と、前記生体微量成分に対し活性で前記第1の物質とは異なる第2の物質を予め標識した第2の試薬とを反応させて、これらの複合体を生じさせ、該複合体の標識量を測定することにより前記検体中の生体微量成分の存在を定性的又は定量的に検出する検査装置において、前記複合体の生成反応を行う反応槽と、前記複合体の計測を行うフローセルと、少なくとも該フローセルとの連結部に吸収部材を配置した廃液槽とを備えたことを特徴とする生体微量成分検査装置。

【請求項2】 固体微粒子の表面に、検体中の生体微量成分に対し活性な第1の物質を結合させた第1の試薬と、前記検体と、前記生体微量成分に対し活性で前記第1の物質とは異なる第2の物質を予め標識した第2の試薬とを反応させて、これらの複合体を生じさせ、該複合体の標識量を測定することにより前記検体中の生体微量成分の存在を定性的、又は定量的に検出する検査装置において、前記複合体の生成反応を行う反応槽と、前記複合体の計測を行うフローセルと、該フローセルに連結した減圧状態の廃液槽とを備えたことを特徴とする生体微量成分検査装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、検体中の生体微量成分を、微粒子を用い、抗原抗体反応による反応生成物、又は核酸のハイブリダイゼーションによる反応生成物を測定セルに送り、検体中の生体微量成分を検出する方法に用いられる簡便な生体微量成分検査装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 近年の生体微量成分の検出の技術の進歩は、臨床検査の分野で各種疾病の早期診断や予後の診断等に大きな役割を演じてきた。1958年にS.A. Bersonらによって放射性ヨードで標識してインスリンを定量的に検出する方法が発表されて以来、IgE、IgG、CRP、マイクログロブリン等の血漿蛋白、AFP、CEA、CA19-9などの腫瘍マーカー、TSH、T<sub>4</sub>などのホルモン類、血中薬物、HBV、HIVなどのウイルス及びその抗体、DNAやRNAなどの核酸が測定可能になり、しかも自動化により多数の検体処理が可能になっている。更に、抗原・抗体反応を利用した免疫学的方法、又は核酸-核酸ハイブリダイゼーションを利用して、生体微量成分を分析する方法が多く用いられている。

【0003】 こうした分析方法の例では、被検出物質である生体微量成分と特異的に結合する抗体や抗原、又は1本鎖の核酸をプローブとして固体微粒子、ビーズ、反応槽の壁などの固相表面に固定し、被検出物質と抗原抗

2

体反応又は核酸ハイブリダイゼーションを行わせている。更に、蛍光性物質、発光性物質などの検知感度の高い標識物質を担持した標識化抗体、標識化抗原、標識化1本鎖核酸を用いて抗原・抗体複合体や2本鎖の核酸を検出して被検物質を定量している。

【0004】 第3図は蛍光性物質を標識とし抗原・抗体反応により生ずる抗原抗体複合体を検出する例を示している。第1の試薬は検体中の抗原と特異的に結合する抗体1を予め結合させた固体微粒子2から成る。第2の試薬は予め蛍光物質3で標識した、抗原4と特異的に結合する抗体5から成る。第1の試薬・抗原4・第2の試薬を反応させ、これらの複合体6を得る。また、第1の試薬と抗原4を反応させ、複合体を得て、次いで第2の試薬を反応させ、複合体6を生じさせてもよい。

【0005】 複合体6を含む反応液を、必要に応じて未反応の第2の試薬の除去などの目的で洗浄した後に、光学的な測定をする。測定には、複合体6を含む反応液を適宜希釈した後、パッチ型の光学セルに入れて蛍光強度を測定する方法、又はフロー型の光学セルに反応液を送り、蛍光強度を測定する方法などが実施され、その結果から検体中の抗原量が求められる。なお、後者のフロー型の光学セルを用いたフローサイトメータは、測定精度、感度が優れていることから広く用いられている。

【0006】 第4図は一般的なフローセルを用いた測定装置の構成図である。フローセル7の流通部7a内を高速の層流となったシース液に包まれて反応液が通過し、この流れと直交する方向にレーザー光源8が配置されている。このレーザー光源8から照射されたレーザー光Lを流通部7aに導くために、光軸01上に結像レンズ9が配置されており、更に反応液中の複合体から得られる前方散乱光を測定するために、フローセル7を挟んでストップ10、集光レンズ11、12、光検出器13が順次に配列されている。

【0007】 また、複合体の流れの方向とレーザー光の照射方向の光軸01にそれぞれ直交する方向の光軸02上に、フローセル7側から集光レンズ14、15、コリメータレンズ16、波長選択特性を有するダイクロックミラー17、18及び反射ミラー19が順次に配列されている。そして、ダイクロックミラー17、18、反射ミラー19の反射方向には、バリアフィルタ20、21、22及び光検出器23、24、25がそれぞれ配列されている。

【0008】 この第4図において、レーザー光源8からのレーザー光Lは結像レンズ9でフローセル7の流通部7a付近に結像される。流通部1aを流れる反応液の中の複合体によるレーザー光Lの散乱光の内、前方散乱光は集光レンズ11、12により光検出器13に集光される。ここで、ストップ10はレーザー光Lの直接光をカットする役割を果たしている。

【0009】 また、複合体には蛍光物質が標識されてお

り、光軸02上に配列してある集光レンズ14、15、コリメータレンズ16、ダイクロックミラー17、18、バリアフィルタ20、21、22、光検出器23、24、25を用いて、側方散乱光を基に複数のチャンネルによる蛍光測定を行う。

【0010】このようにして得られた蛍光データから、図示しない演算装置により標識量を算出し、これにより検体中の抗原量が求められる。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】フローサイトメータによる測定は精度、感度は共に優れているが、装置に反応液を送るためのポンプや、フローセルに反応液中の複合体を順次を送るための多量のシース液が必要であるため、装置が大型化したり、更にシース液に由来する検査廃液が大量になるなど問題がある。

【0012】本発明の目的は、これらの問題点を解決し、小型で、簡便かつ検査廃液が少なく済む生体微量成分検査装置を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】上述の目的を達成するための第1発明に係る生体微量成分検査装置の要旨は、固体微粒子の表面に、検体中の生体微量成分に対し活性な第1の物質を結合させた第1の試薬と、前記検体と、前記生体微量成分に対し活性で前記第1の物質とは異なる第2の物質を予め標識した第2の試薬とを反応させて、これらの複合体を生じさせ、該複合体の標識量を測定することにより前記検体中の生体微量成分の存在を定性的又は定量的に検出する検査装置において、前記複合体の生成反応を行う反応槽と、前記複合体の計測を行うフローセルと、少なくとも該フローセルとの連結部に吸収部材を配置した廃液槽とを備えたことを特徴とするものである。

【0014】また、同様に上述の目的を達成するための第2発明に係る生体微量成分検査装置の要旨は、固体微粒子の表面に、検体中の生体微量成分に対し活性な第1の物質を結合させた第1の試薬と、前記検体と、前記生体微量成分に対し活性で前記第1の物質とは異なる第2の物質を予め標識した第2の試薬とを反応させて、これらの複合体を生じさせ、該複合体の標識量を測定することにより前記検体中の生体微量成分の存在を定性的、又は定量的に検出する検査装置において、前記複合体の生成反応を行う反応槽と、前記複合体の計測を行うフローセルと、該フローセルに連結した減圧状態の廃液槽とを備えたことを特徴とするものである。

【0015】

【作用】上述の構成を有する生体微量成分検査装置は、反応槽と、フローセルと、廃液槽を一体化し、圧力差、又は液吸収部材の吸収力により、反応槽から廃液槽へと反応液が流れることにより、反応液中の複合体がシース液を用いることなく、フローセルに順次送到れる。

【0016】

【実施例】本発明を図1、図2に図示の実施例を図面に基づいて説明する。図1は第1の実施例の構成図である。反応槽30、毛細管状のフローセル31と廃液槽32は一体化されて、フローセル31は光学的に透明なガラス、プラスチック類などの材料で形成されている。フローセル31と廃液槽32の連結部分及び廃液槽32内には吸収部材33が配置され、この吸収部材33は綿、濾紙等の紙類、ポリアクリルアミド系、セルロース系等の高吸収性高分子等とされ、反応液を吸収する部材であればその材質を問わない。反応槽30には注入口34が設けられ、内部に攪拌具35が設けられている。

【0017】フローセル31の側方には、レーザー光Lを発光するレーザ光源36、結像レンズ37が設けられ、フローセル31を挟んだ反対側にはストッパ38、第1の集光レンズ39、第1の光検出器40が配列されている。また、フローセル31の長手方向及びレーザー光Lの方向に対して直角に、第2の集光レンズ41、第2の光検出器42が配置されている。

【0018】反応槽30に注入口34から試薬、検体などを注入し、反応槽30中で第1の試薬と第2の試薬を混合し、複合体生成反応を行い、必要により温度制御をする。また、反応液の攪拌は複合体生成反応を迅速かつ均一に進めるために必要であり、注入口34から攪拌具35を挿入し攪拌する。攪拌方法としてはその他に回転子を入れて磁力で回転攪拌したり、又は超音波攪拌機などを用いてもよい。反応終了後に、水を主成分とする希釈液で反応液を希釈する場合には、反応液がフローセル31の計測部を通過する際に、複合体が1個ずつ順次送られる程度に希釈率を定めて希釈し、毛細管現象によりこの反応液を毛細管状のフローセル31に浸透させる。そして、反応液はフローセル31の出口部位に配置した吸収部材33に吸収されるため、反応液は反応槽30から廃液槽32に連続的に流出する。

【0019】フローセル31に流入した反応液は、結像レンズ37によってフローセル31に結像された光源36からのレーザー光Lにより照射される。反応液中の複合体6によるレーザー光Lの前方散乱光は、第1の集光レンズ39を経て第1の光検出器40により測定される。更に、蛍光成分はレーザー光Lの方向に対し直角方向に設けられた第2の集光レンズ41、第2の光検出器42により測定され、反応液の標識量が測定される。

【0020】なお、上述の例は標識物質に蛍光物質を使用した場合であるが、化学発光物質、生物発光物質などの発光物質を標識として用いた場合は、レーザー光源36からレーザー光を照射することなく、フローセル31において、複合体6の第2の発光を光検出器42で測定することができる。

【0021】図2は第2の実施例を示し、フローセル31と廃液槽32の間には電磁弁等から成る環43が設け

5

られ、廃液槽32は減圧状態にある。廃液槽32はガスバリア性の高いポリビニルアルコール、塩化ビニリデン等の高分子で被覆するなどして、減圧状態が維持されるような材質となっている。

【0022】使用に際しては、堰43を僅かに開けることにより、廃液槽32内の減圧による吸引力によって、反応液をフローセル31中に吸引し、図1の場合と同様な測定を行う。

【0023】ここで、使用される試薬について詳しく述べると、第1の試薬は例えば粒子径1 $\mu$ m程度のポリスチレン微粒子に、検体中の生成微量成分に活性な第1の物質を結合させたものであり、この結合は一般に物理結合又は化学結合によりなされる。

【0024】複合体を生じさせる反応に抗原抗体反応を利用する場合には、第1の物質には例えば天然又は合成のペプチド、蛋白質、酵素、糖類、レクチン、ウイルス、細菌、核酸、DNA、RNA、抗体などが用いられる。その中でも、臨床的には特に有用な物質として以下のものが挙げられる。

【0025】(イ) IgG、IgEなどの免疫グロブリン、補体、CRP、フェリチン、 $\alpha_1$ 又は $\beta_2$ ：マイクログロブリンなどの血漿蛋白及びそれらの抗体、

【0026】(ロ)  $\alpha$ -フェトプロテイン、癌胎児性抗原(CEA)、CA19-9、CA-125などの腫瘍マーカー及びそれらの抗体：黄体化ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)

【0027】(ハ) エストロゲン、インスリンなどのホルモン類及びそれらの抗体

【0028】(ニ) HBV、HCV、HIV、ATLなどのウイルス感染関連物質及びそれらの抗体

【0029】(ホ) ジフテリア菌、ボツリヌス菌、マイコプラズマ、梅毒トレポネーマなどのバクテリア類及びそれらの抗体

【0030】(ヘ) トキソプラズマ、トリコモナス、リーシュマニア、トリパノゾーマ、マラリア原虫などの原虫類及びそれらの抗体

【0031】(ト) フェニトイン、フェノバルビタールなどの抗てんかん薬、キニジン、ジゴキシニンなどの心血管薬、テオフィリンなどの抗喘息薬、クロラムフェニコール、ゲンタマイシンなどの抗生物質などの薬物類及びそれらの抗体

6

【0032】(チ) その他酵素、菌体外毒素(ストレリジンOなど)及びそれらの抗体などがあり、検体中の被測定物質と抗原・抗体反応を起こす物質を被測定物質の種類に応じて適宜に選択する。

【0033】また、反応に核酸ハイブリダイゼーションを利用する場合には、例えば検体中の被検出物質に対し、活性な第1の物質には検査対象となる核酸の塩基配列に対し相補的な塩基配列を持つ核酸プローブが用いられる。

【0034】第2の試薬は被検出物質に対し活性で、かつ第1の試薬に用いられる活性な第1の物質とは異なる第2の物質と、蛍光性物質、発光性物質などの標識物質を結合させたものを用いる。通常、多価アミン、カルボジイミド類などの架橋剤を用いて第2の物質と標識物質を化学結合させる。

【0035】第1の試薬、第2の試薬共に水を主成分とする分散媒に分散する。なお、分散媒にはpH緩衝剤、蛋白質、界面活性剤、水溶性高分子化合物などが適宜添加される。

【0036】

【発明の効果】以上説明したように本発明に係る生体微量成分検査装置は、反応液を送り出すためのポンプ類が不要なため装置が簡便なり、更にシース液を使用しないので検査廃液を大幅に減少させることが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】第1の実施例の構成図である。

【図2】第2の実施例の構成図である。

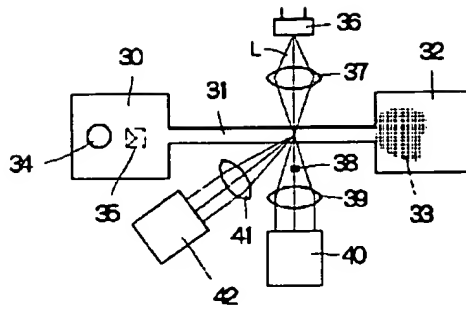
【図3】試薬と生体微量成分(抗原)の複合体生成反応モデル図である。

【図4】従来例のフローセルを用いた測定装置の構成図である。

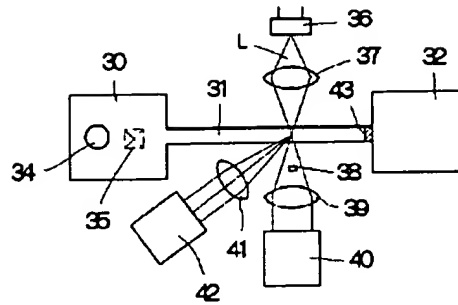
【符号の説明】

- 30 反応槽
- 31 フローセル
- 32 廃液槽
- 33 吸収部材
- 34 注入口
- 35 攪拌具
- 36 レーザー光源
- 40、42 光検出器
- 43 堰

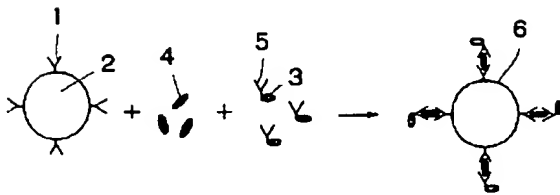
【図1】



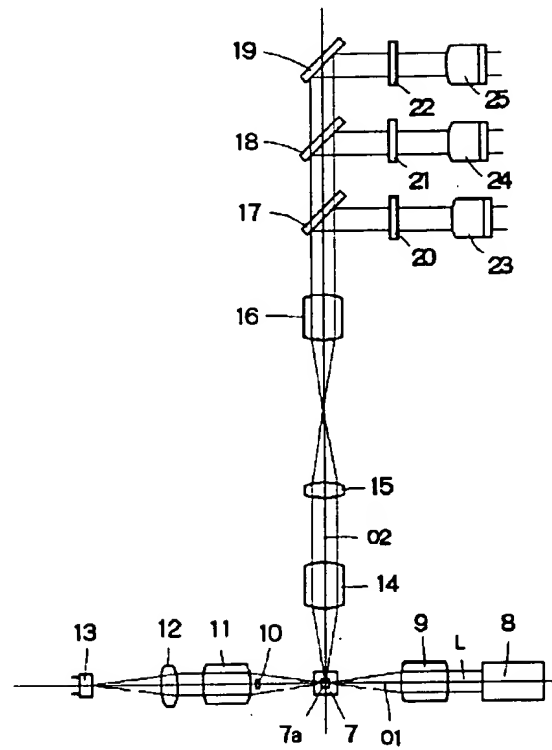
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(72)発明者 西村 松臣  
東京都大田区下丸子三丁目30番2号 キヤ  
ノン株式会社内

(72)発明者 宮崎 健  
東京都大田区下丸子三丁目30番2号 キヤ  
ノン株式会社内